

小腸各部位における腸上皮細胞間リンパ球(IEL)及び粘膜固有層内リンパ球(LPL)の分布の差異について

著者	田村 明
号	1839
発行年	2002
URL	http://hdl.handle.net/10097/22282

氏 名（本籍）	た 田 むら 村 あきら 明
学 位 の 種 類	博 士 （ 医 学 ）
学 位 記 番 号	医 博 第 1 8 3 9 号
学位授与年月日	平 成 14 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学 位 論 文 題 目	小腸各部位における腸上皮細胞間リンパ球（IEL） 及び粘膜固有層内リンパ球（LPL）の分布の差異 について

	(主 査)			
論 文 審 査 委 員	教授 岡	芳 知	教授 伊 藤 恒 敏	
	教授 名 倉	宏	教授 下瀬川	徹

論文内容要旨

研究目的・方法

小腸における上皮細胞間リンパ球 (IEL) 及び粘膜固有層内リンパ球 (LPL) の正常状態での分布を明らかにするために, BALB/c マウスの小腸を十二指腸, 空腸, 回腸の三部位に分けて凍結標本作製し, 各 T-cell マーカーとラミニンに対する抗体で二重免疫組織染色を行った。IEL と LPL を組織切片上で区別して同定, 計測し, 上皮細胞 100 個あたりのフェノタイプ毎の数及び絨毛内での分布の特徴, そして小腸内の部位による違いを調べた。

結果及び考察

CD3⁺ の IEL は十二指腸で最も多く, 空腸, 回腸に行くにつれて数が少なくなっていた。絨毛一本あたりの数においてではなく, 上皮細胞 100 個あたりの数に換算した量においてもこのような傾向が見られたことは, IEL の上皮間での「密度」が, 十二指腸で高く, 空腸, 回腸に行くにつれて低くなっていることを意味する。TCR $\gamma\delta^+$ と TCR $\alpha\beta^+$ については, 十二指腸及び空腸では TCR $\gamma\delta^+$ が TCR $\alpha\beta^+$ よりも有意に多く ($\gamma\delta : \alpha\beta = 3 : 1 \sim 2 : 1$), 回腸では逆に TCR $\alpha\beta^+$ が TCR $\gamma\delta^+$ よりも有意に多くなっていた ($\gamma\delta : \alpha\beta = 1 : 3$)。従来のフローサイトメトリーでの分析では, TCR $\gamma\delta^+$ の IEL は全 IEL の 40–50% を占めると報告されている ($\gamma\delta \text{ IEL} \leq \alpha\beta \text{ IEL}$)。今回得られた結果との相違の理由としては, フローサイトメトリーでの分析標本には, LPL (TCR $\alpha\beta^+$ が優位) の混入が否定できないこと, 更に, 回腸では比率が逆転して TCR $\alpha\beta^+ > \text{TCR } \gamma\delta^+$ となっているため, 小腸を部位に分けずに IEL を分離・回収すると, 部位間の差が平均化されて, 従来報告されているような数値となることなどが考えられた。

小腸内のいずれの部位でも CD8 α^+ が CD4⁺ よりも多かったが, CD4⁺ が十二指腸から空腸, 回腸に行くにつれて数が増える傾向を示すのに対し, CD8 α^+ は減少する傾向を示した。CD8 $\alpha\alpha^+$ と CD8 $\alpha\beta^+$ については, いずれの部位でも CD8 $\alpha\alpha^+$ が CD8 $\alpha\beta^+$ よりも多かった。CD8 $\alpha\alpha^+$ は十二指腸で最も多く, 空腸, 回腸に行くにつれて数が少なくなっていた。CD8 $\alpha\beta^+$ は各部位で 2–4 個と, ほぼ一定であった。CD8 $\alpha\alpha^+$ の IEL の数は, 十二指腸, 空腸では TCR $\gamma\delta^+$ とほぼ同数を示し, CD8 $\alpha\alpha^+$ IEL の細胞集団が, TCR $\gamma\delta^+$ IEL とほぼ一致することが示唆された。一方, 回腸では TCR $\gamma\delta^+$ の割合は CD8 $\alpha\alpha^+$ IEL の約半分程度となっており, これは, 回腸において TCR $\alpha\beta^+$ CD8 $\alpha\alpha^+$ IEL という細胞集団が特異的に存在することを示すものと考えられた。

CD3⁺ の LPL は十二指腸で最も少なく、空腸、回腸に行くにつれて有意に数が多くなっていた。TCR $\alpha\beta$ ⁺ と TCR $\gamma\delta$ ⁺ 双方とも、小腸上部から下部に行くにつれて増加する傾向を示した。また、常に TCR $\alpha\beta$ ⁺ が TCR $\gamma\delta$ ⁺ よりも多かった。CD4⁺ が常に CD8 α ⁺ よりも多数であり、CD4⁺ は小腸上部から下部に行くにつれて増加したのに対し、CD8 α ⁺ は 2～4 個と、ほぼ不変であった。CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ と CD8 $\alpha\beta$ ⁺ では、どちらも 1～2 個と、少数であった。LPL における T-cell のフェノタイプは、CD4⁺ が CD8⁺ の 2～3 倍の割合で存在することや、TCR $\alpha\beta$ ⁺ が多く TCR $\gamma\delta$ ⁺ は有意に少ないなどの点で、循環末梢血中の T-cell のフェノタイプの組成と類似していた。ただし、LPL 中の CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ は十二指腸で 20% 弱も存在し、これは、LPL 中に通過中の IEL が一定数存在することを示すものと考えられた。

形態の特徴としては、TCR $\alpha\beta$ ⁺ IEL は小円形であり、TCR $\gamma\delta$ ⁺ IEL は大型であった。CD4⁺ CD8⁺ の double positive T-cell は、回腸にのみ LPL として少数存在していた。

以上の結果から、小腸各部位における IEL, LPL の数、性状にこれまでの報告に記載されている以上に大きな違いのあることが明らかとなった。このことは、小腸各部位における感染防御や、あるいは小腸絨毛上皮細胞のアポトーシス制御などの免疫機構の相違を示す必要な基盤と考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

【研究目的・方法】 小腸における上皮細胞間リンパ球（IEL）及び粘膜固有層内リンパ球（LPL）の正常状態での分布を明らかにするために、BALB/c マウスの小腸を十二指腸、空腸、回腸の三部位に分けて凍結標本を作製し、各 T-cell マーカーとラミニンに対する抗体で二重免疫組織染色を行った。IEL と LPL を組織切片上で区別して同定、計測し、上皮細胞 100 個あたりのフェノタイプ毎の数及び絨毛内での分布の特徴、そして小腸内の部位による違いを調べた。

【結果及び考察】 $CD3^+$ の IEL は十二指腸で最も多く、空腸、回腸に行くにつれて数が少なくなっていた。絨毛一本あたりの数においてではなく、上皮細胞 100 個あたりの数に換算した量においてもこのような傾向が見られたことは、IEL の上皮間での「密度」が、十二指腸で高く、空腸、回腸に行くにつれて低くなっていることを意味する。 $TCR\gamma\delta^+$ と $TCR\alpha\beta^+$ については、十二指腸及び空腸では $TCR\gamma\delta^+$ が $TCR\alpha\beta^+$ よりも有意に多く（ $\gamma\delta:\alpha\beta=3:1\sim2:1$ ）、回腸では逆に $TCR\alpha\beta^+$ が $TCR\gamma\delta^+$ よりも有意に多くなっていた（ $\gamma\delta:\alpha\beta=1:3$ ）。従来のフローサイトメトリーでの分析では、 $TCR\gamma\delta^+$ の IEL は全 IEL の 40–50% を占めると報告されている（ $\gamma\delta IEL \leq \alpha\beta IEL$ ）。今回得られた結果との相違の理由としては、フローサイトメトリーでの分析標本には、LPL（ $TCR\alpha\beta^+$ が優位）の混入が否定できないこと、更に、回腸では比率が逆転して $TCR\alpha\beta^+ > TCR\gamma\delta^+$ となっているため、小腸を部位に分けずに IEL を分離・回収すると、部位間の差が平均化されて、従来報告されているような数値となることなどが考えられた。

小腸内のいずれの部位でも $CD8\alpha^+$ が $CD4^+$ よりも多かったが、 $CD4^+$ が十二指腸から空腸、回腸に行くにつれて数が増える傾向を示すのに対し、 $CD8\alpha^+$ は減少する傾向を示した。 $CD8\alpha\alpha^+$ と $CD8\alpha\beta^+$ については、いずれの部位でも $CD8\alpha\alpha^+$ が $CD8\alpha\beta^+$ よりも多かった。 $CD8\alpha\alpha^+$ は十二指腸で最も多く、空腸、回腸に行くにつれて数が少なくなっていた。 $CD8\alpha\beta^+$ は各部位で 2～4 個と、ほぼ一定であった。 $CD8\alpha\alpha^+$ の IEL の数は、十二指腸、空腸では $TCR\gamma\delta^+$ とほぼ同数を示し、 $CD8\alpha\alpha^+$ IEL の細胞集団が、 $TCR\gamma\delta^+$ IEL とほぼ一致することが示唆された。一方、回腸では $TCR\gamma\delta^+$ の割合は $CD8\alpha\alpha^+$ IEL の約半分程度となっており、これは、回腸において $TCR\alpha\beta^+CD8\alpha\alpha^+$ IEL という細胞集団が特異的に存在することを示すものと考えられた。

$CD3^+$ の LPL は十二指腸で最も少なく、空腸、回腸に行くにつれて有意に数が多くなっていた。 $TCR\alpha\beta^+$ と $TCR\gamma\delta^+$ 双方とも、小腸上部から下部に行くにつれて増加する傾向を示した。また、常に $TCR\alpha\beta^+$ が $TCR\gamma\delta^+$ よりも多かった。 $CD4^+$ が常に $CD8\alpha^+$ よりも多数であり、 $CD4^+$ は小腸上部から下部に行くにつれて増加したのに対し、 $CD8\alpha^+$ は 2～4 個と、ほぼ不変であった。 $CD8\alpha\alpha^+$ と $CD8\alpha\beta^+$ では、どちらも 1～2 個と、少数であった。LPL における T-cell のフェノタイプは、 $CD4^+$ が $CD8^+$ の 2～3 倍の割合で存在することや、 $TCR\alpha\beta^+$ が多く $TCR\gamma\delta^+$ は有意に少ないなどの点で、循環末梢血中の T-cell のフェノタイプの組成と類似していた。ただし、LPL 中の $CD8\alpha\alpha^+$ は十二指腸で 20% 弱も存在し、これは、LPL 中に通過中の IEL が一定数存在することを示すものと考えられた。

形態の特徴としては、 $TCR\alpha\beta^+$ IEL は小円形であり、 $TCR\gamma\delta^+$ IEL は大型であった。 $CD4^+CD8^+$ の double positive T-cell は、回腸にのみ LPL として少数存在していた。

以上の結果から、小腸各部位における IEL、LPL の数、性状にこれまでの報告に記載されている以上に大きな違いのあることが明らかとなった。このことは、小腸各部位における感染防御や、あるいは小腸絨毛上皮細胞のアポトーシス制御などの免疫機構の相違を示す重要な基盤と考えられた。